

ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

ANNEE 1930

N°

87

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

(DIPLOME D'ÉTAT)

Soutenue devant la Faculté de Médecine de Paris en 1930

PAR

NICOLAS PIERRE MOROSOFF

Né le 20 Octobre 1896, à Roustchoux (Bulgarie)

CONTRIBUTION

à l'Étude de la Fécondation Artificielle
et de la Conservation des Spermatozoïdes
chez les Animaux Domestiques

JURY :

Président M. CHAMPY, Professeur à la Faculté de Médecine

Assesseur.	{	MM. DECHAMBRE	{	Professeurs à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort.
		ROBIN		

ÉDITIONS ET PUBLICATIONS
CONTEMPORAINES - PIERRE BOSSUET
47. RUE DE LA GAITÉ - PARIS - 14^e

1930

CONTRIBUTION

à l'Étude de la Fécondation Artificielle
et de la Conservation des Spermatozoïdes
chez les Animaux Domestiques

A MA FEMME

A MON ENFANT

A MONSIEUR LE PROFESSEUR G. MOUSSU

de l'Ecole Vétérinaire d Alfort,

Témoignage de respectueuse reconnaissance pour tout ce
qu'il a fait pour nous.

En témoignage de reconnaissance et de respect.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR DECHAMBRE

de l'Ecole Vétérinaire d'Alfort,

qui a bien voulu rapporter notre thèse dont la rédaction fut constamment inspirée par les leçons et les conseils que nous avons reçus de ce Maître pendant notre séjour à l'Ecole Vétérinaire d'Alfort.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR
de la Faculté de Médecine de Paris

Pour le grand honneur qu'il nous a fait
d'accepter la présidence de cette thèse.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR ROBIN
de l'Ecole Vétérinaire d'Alfort,

Pour les conseils éclairés et l'aide précieuse
qu'il nous a donnés pour la rédaction de ce travail.

A TOUS NOS MAÎTRES DE L'ECOLE D'ALFORT.

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

ANNEE 1930

N°

THÈSE
POUR LE
DOCTORAT VÉTÉRINAIRE
(DIPLOME D'ÉTAT)

Soutenue devant la Faculté de Médecine de Paris en 1930

PAR

NICOLAS PIERRE MOROSOFF

Né le 20 Octobre 1896, à Roustchoux (Bulgarie)

CONTRIBUTION
à l'Étude de la Fécondation Artificielle
et de la Conservation des Spermatozoïdes
chez les Animaux Domestiques

JURY :

Président M. CHAMPY, Professeur à la Faculté de Médecine

Assesseurs	{	MM. DECHAMBRE	{	Professeurs à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort.
		ROBIN		

ÉDITIONS ET PUBLICATIONS
CONTEMPORAINES - PIERRE BOSSUET
47. RUE DE LA GAITÉ - PARIS - 14^e

1930

Personnel Enseignant de l'École Vétérinaire d'Alfort

Directeurs honoraires : MM. P.-J. CADIOT et H. VALLÉE

Directeur : M. E. NICOLAS

Professeurs honoraires : MM. G. BARRIER, Inspecteur général honoraire des Ecoles Vétérinaires, P.-J. CADIOT, A. RAILLIET, H. VALLÉE.

PROFESSEURS ET CHARGÉS DE COURS

Anatomie descriptive des animaux domestiques	MM.
Physiologie, thérapeutique générale	BRESSOU.
Physique et Chimie médicales, toxicologie, pharmacie	MAIGNON.
Parasitologie et maladies parasitaires, clinique ; Zoologie	NICOLAS.
Pathologie médicale des équidés et des carnassiers, clinique ; sémiologie et propédeutique, jurisprudence	HENRY.
Pathologie chirurgicale des équidés et des carnassiers, clinique ; anatomie chirurgicale, médecine opératoire et ferrure	ROBIN.
Pathologie bovine, ovine, caprine, porcine et aviaire, clinique ; médecine opératoire, obstétrique	COQUOT.
Pathologie générale et microbiologie, maladies microbiennes et police sanitaire, clinique	LESBOUYRIES.
Histologie et embryologie, anatomie pathologique ; autopsies	PANISSET.
Zootéchnie et économie rurale	PETIT.
Agronomie, botanique et hygiène ; matière médicale	DECHAMBRE.
Industrie et contrôle des produits d'origine animale	et HENRY.
	VERGE.

PROFESSEUR AGRÉGÉ

M. LESBOUYRIES

CHEF DE TRAVAUX AGRÉGÉ

M. SIMONNET.

CHEFS DE TRAVAUX

M. MONVOISIN. — MOUSSU (R.). — VALADE

La Faculté de Médecine et l'Ecole Vétérinaire déclarent que les opinions émises dans les dissertations qui leur sont présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner ni approbation, ni improbation.



Contribution à l'Étude de la Fécondation Artificielle et de la Conservation des Spermatozoïdes chez les Animaux Domestiques

AVANT-PROPOS

Dans ce modeste travail, nous n'avons pas la prétention d'apporter quelque chose d'essentiellement nouveau dans les questions de la fécondation artificielle et de la conservation des facultés fécondantes du sperme. Ces questions ont été beaucoup débattues depuis une trentaine d'années, mais il reste encore du terrain inexploité et les recherches concernant les questions de ce genre peuvent se prolonger indéfiniment, en variant, soit les conditions des expériences, soit la nature des produits en nombre inépuisable, qu'on peut supposer comme offrant les meilleurs milieux de conservation des spermatozoïdes, soit au point de vue purement spéculatif, soit dans le but pratique de la fécondation artificielle.

Le choix d'un tel sujet pour notre thèse, nous fut suggérée par M. le Professeur Robin, et c'est sous sa direction bienveillante et éclairée que nous avons entrepris et continué nos expériences.

C'est donc pour nous un devoir de lui exprimer ici nos remerciements respectueux pour les savants et désintéressés conseils qu'il nous a donnés constamment au cours de ce travail, et pour le bienveillant accueil qu'il nous a toujours réservé dans son laboratoire.

La conservation des spermatozoïdes doit être résolue avant qu'on puisse aborder avec fruit la question des fécondations artificielles.

En effet, sauf dans les cas d'obstacle mécanique (déformation des organes génitaux internes, déviation de l'utérus, tumeurs du col de la matrice, etc...) la fécondation artificielle se pratique soit dans le cas où on veut transporter loin le sperme, soit quand il s'agit d'une femelle à sécrétion modifiée des organes génitaux (vaginite, métrite).

Pour transporter loin le sperme, il est évident qu'il faut connaître les conditions de conservation des spermatozoïdes et pour être sûr d'avoir un résultat, dans le cas d'une femelle à sécrétion pathologique altérée, il faut connaître le produit qui facilite la conservation de l'agent fécondant dans le milieu morbide où il aura à évoluer.

Voilà pourquoi nous pensons que la question de la conservation doit précéder celle de la fécondation artificielle et la raison pour laquelle ce travail est entrepris.

Parmi les produits utilisés, comme conservateurs des propriétés fécondantes du sperme : le bicarbonate de soude tient sans conteste la première place

Les lavages au bicarbonate de soude des femelles difficiles à remplir sont de règle

Mais la façon de l'employer n'est pas uniforme chez tous les praticiens, les solutions se font surtout à des taux très différents et pour ainsi dire d'une façon empirique.

Connaître exactement la façon de se comporter de ces produits vis-à-vis des spermatozoïdes, déterminer le taux de la solution la plus convenable pour le but cherché, voilà ce qui nous a paru intéressant surtout au point de vue pratique, convaincus que nous sommes qu'un grand nombre des stérilités provient de l'emploi irraisonné des produits dont nous avons parlé, produits dont les solu-

tions employées sont en général trop fortes comme nos expériences le prouvent.

L'eau ordinaire, l'eau distillée, le sérum physiologique simple, glucosé et lactosé, le sérum de Loch et Ringer, le sérum gélatiné, le bouillon peptonisé, glucosé, et lactosé, le sérum sanguin, l'eau de Javel, l'acide acétique, le néo-salvarsan, le chlorure de sodium, ont été examinés au même point de vue.

Nous exposerons en détail les résultats obtenus.

HISTORIQUE

Il semble que les arabes au moyen-âge connaissent et pratiquaient la fécondation artificielle chez les animaux domestiques (1), comme d'ailleurs, ils connaissent la fécondation artificielle chez les plantes, les palmiers en particulier.

Mais la légende s'y mêle certainement et pour remon-

(1) Le Docteur LE BON cite le passage suivant d'un livre écrit vers l'an 700 de l'Hégire (1322 de notre ère) :

Un habitant de DORFOUR ayant une jument en chaleur prit une poignée de coton bien nettoyée et bien préparée, l'attacha avec soin sur une des parties génitales de la bête et l'y laissa un jour entier.

L'ayant retiré ensuite, toute humide du suintement échauffé de la vulve, il l'enveloppa avec précaution dans d'autre coton frais et la plaça dans une sacoche bien close.

Puis accoutré d'un faux costume, cet homme se rendit sur les terres d'une tribu ennemie où se trouvait un étalon renommé et en voulut avoir de la descendance : ayant trouvé le moyen de s'approcher du cheval qui était attaché par une entrave en fer, fixée à une chaîne, il tira le coton de sa sacoche, l'approcha des narines du cheval qui aspirant l'odeur s'anima, s'échauffa, l'arabe approcha le coton et Dieu voulut qu'il fut arrosé.

Rentré chez lui, il glissa le coton imprimé de sperme dans la partie génitale de la jument, où il l'abandonna pendant un certain temps.

La semence se délaya, puis fut absorbée par le fait de la chaleur locale, Dieu voulut que la jument conçut.

Elle fut laissée à l'attache encore quelque temps. La conception devint manifeste.

La cavale mit bas, il naquit un beau poulain, à l'image de son père, « Curot » Fécondation et stérilité. — Thèse de 1925.

ter aux choses certaines, c'est à Spalanzini qu'appartient l'honneur de l'avoir pratiquée le premier sur une chienne en 1780.

Plus tard, Hunter, la pratiqua sur une femme en 1799.

Le Dr Gruault de Paris la pratiqua encore sur une femme en 1834 et depuis un grand nombre de médecins tant en France qu'en Amérique et ailleurs, s'occupèrent avec la question et pratiquèrent l'opération avec plus ou moins de succès.

En ce qui concerne les animaux domestiques, la question fut reprise par Ivanoff vers 1899 et ces travaux sur la fécondation artificielle furent très importants.

La question de l'action des agents physiques et des divers corps chimiques sur les spermatozoïdes fut ainsi examinée.

Le résumé de ces travaux serait que :

1° La chaleur et le froid agissent de même et tuent ou paralysent les spermatozoïdes.

2° Les acides, la salive, le tannin, la créosote, les antiseptiques, les anesthésiques, l'eau pure les tuent.

3° Les alcalins conservent et augmentent leur vitalité.

Cette dernière conception donne lieu à une pratique courante employée par les praticiens, pratique consistant à des lavages vaginaux et intra-utérins, par des solutions bicarbonatées.

On se préoccupe, en général, peu du taux de ces solutions qui sont le plus souvent très néfastes et nous verrons en exposant le résultat de nos expériences quel est le taux le plus favorable pour que les résultats de l'opération aient le plus de chance de succès.

IMPORTANCE PRATIQUE DE LA FECONDATION ARTIFICIELLE (1)

Pour nous limiter aux animaux domestiques, l'importance économique de la fécondation artificielle est énorme.

La stérilité est abaissée à un taux assez bas et il suffit de se reporter aux travaux d'Ivanoff pour en avoir la preuve (1).

La diminution du nombre des saillies d'un étalon permet par cette méthode, tout en obtenant le même ou un nombre supérieur de produits, d'obtenir une conservation plus longue des étalons, une diminution du prix de la saillie, le transport lointain du sperme, des accouplements pratiquement impossibles, soit par disproportion de taille, soit du fait d'impossibilité des organes génitaux externes (paralysie du pénis, manque d'érection par vieillesse, etc...) soit par accident quelconque (faiblesse du train postérieur, etc.) qui ne permet pas à l'étalon de se lever sur son train postérieur pour effectuer la saillie, soit pour pratiquer des hybridations dont on connaît les difficultés.

La question hygiénique n'est pas moindre à considérer.

Une femelle à vaginite saillie, au moment de ses chaleurs, infectera l'étalon ; non saillie ses chaleurs passeront et elle risque de rester stérile une année.

La fécondation artificielle permet d'éviter ces écueils.

(1) D'après IVANOFF, de 1899 à 1909 sur 579 juments auxquelles le procédé avait été appliqué, 25 0/0 avaient été fécondées et avaient eu une gestation et une parturition normale.

Dans l'ensemble, la proportion des conceptions fut en 1909 de 40 0/0, en 1910 de 40 3/10 0/0, en 1911 de 35,5 0/0, en 1912, 41,4 pour cent, en 1913, de 42 0/0, mais il faut noter que cette statistique ne tient pas compte de l'état de réceptivité des juments. Dans les stations où on fit une distinction entre celles qui étaient en chaleur et celles qui ne l'étaient pas au moment de l'application du procédé, les pourcentages sont complètement modifiés, ils varient entre 60 et 90 0/0. Revue de zootechnie 5. 1923, page 386, Article « Une amélioration de l'élevage par la méthode Ivanoff (article de M. VOITELLIER...) »

ETIOLOGIE DE LA STERILITE

Cas où la fécondation doit être opérée. Contre-indication : Les causes de la stérilité, tant sur les mâles que sur les femelles peuvent être nombreuses.

Ainsi chez le mâle, l'anorchidie, la cryptorchidie, l'atrophie des testicules, les anomalies de la verge et de l'urètre, parmi les causes de stérilité congénitale ; l'atrophie des testicules par une lésion du système nerveux central, l'inflammation des testicules, l'action de certains médicaments (iode, bromure de potassium), les tumeurs du testicule, les maladies des enveloppes, de l'épididyme, du canal déférent, des vésicules séminales, de la prostate, de l'urètre, les déformations de la verge, parmi les causes de stérilité acquises, les maladies générales, les états pathologiques du sperme (azoospermie, aspermie etc...) sont de causes de stérilité chez le mâle.

Sur la femelle l'absence ou l'arrêt de développement des ovaires, la non maturation des ovules, l'âge, les obstacles qui s'opposent au séminement des ovules, les arrêts du développement, les déviations, les déplacements, les oblitérations, les inflammations des trompes, les entraves apportées à la marche et la pénétration des spermatozoïdes, entraves soit mécaniques, soit chimiques, etc... constituent les causes les plus fréquentes de stérilité.

C'est surtout aux obstacles chimiques de pénétration des spermatozoïdes que notre étude se rapporte.

C'est surtout l'acidité vaginale et les sécrétions pathologiques de l'utérus que l'on incrimine comme provoquant la plus forte proportion de stérilité.

Nous verrons plus tard les conclusions que nos expériences comportent sur la question.

Les Contre-Indications de la fécondation artificielle jouent un rôle très important dans l'espèce humaine.

Ce sont : la tuberculose, l'épilepsie, la syphilis, la folie et les vices très prononcés de la conformation du bassin.

Ces contre-indications sont rarement à considérer en ce qui concerne les animaux domestiques car on livre rarement à la reproduction les animaux présentant des déformations physiques, des vices moraux ou des maladies héréditaires ou incurables.

PRATIQUE DE LA FÉCONDATION ARTIFICIELLE

Différents moyens ont été employés pour pratiquer la fécondation artificielle proprement dite. Dans le cas, où aucune préparation : soit des organes génitaux de la femelle, soit du sperme, n'est nécessitée, on peut distinguer deux groupes de procédés ; tous les deux ayant bien entendu pour objet d'introduction du sperme dans le col de l'utérus.

Dans le premier groupe, la saillie étant faite, on ramasse le sperme avec la main dans le cul de sac inférieur du vagin, au-dessous du col de l'utérus et ensuite on l'introduit dans ce même col, soit avec du coton, soit avec les doigts imprégnés de sperme.

Le plus souvent on emploie une seringue spéciale, manœuvrée par un aide et qui, une fois remplie est introduite par sa partie antérieure dans le col où on la vide.

Dans le deuxième groupe, on ramasse le sperme qui sort de l'urètre, soit dans le creux de la main, soit dans un verre, soit dans des appareils spéciaux utilisés surtout en Amérique.

On peut ensuite par des moyens relatés plus haut (doigts, coton, seringue) porter ce sperme dans le col de l'utérus.

Toutefois, le plus souvent, dans ce dernier cas, on emploie des ampoules de la grosseur du petit doigt qu'on remplit du liquide fécondant et qu'on introduit ensuite

dans le col ; ces ampoules étant faites d'une substance, qui fond à la température du corps, les spermatozoïdes ne tardent pas à être mis en liberté, de façon à pouvoir remplir leur rôle de fécondation.

Nous n'insisterons pas sur les détails de cette opération couramment employée, et que tous les praticiens connaissent, nous insisterons, par contre, plus loin, sur les substances propres à faciliter la conservation des spermatozoïdes, dans le cas où on voudrait obtenir le transport au loin et sur celles capables d'augmenter ou tout au moins d'empêcher la diminution de la vitalité des spermatozoïdes, dans le cas où les organes génitaux internes de la femelle offrent un milieu peu propre à l'évolution des gamètes mâles, par suite de leur sécrétion pathologique.

EXPÉRIENCES EFFECTUÉES ET RESULTATS OBTENUS

Le sperme dont nous nous sommes servis provenait d'un chien Fox, de taille moyenne, âgé de cinq ans et en très bonne santé.

On lui demandait du liquide spermatique une seule fois par jour.

Notre but a été de contrôler les effets de solutions employées couramment dans la pratique et chercher si une concentration particulière des corps réputés conservateurs du sperme, ne conviendrait plus particulièrement au but cherché.

Dans un centimètre cube de la solution employée, nous mettions deux gouttes du sperme et le liquide obtenu était soumis à l'examen du microscope (une goutte entre lame et lamelle), soit immédiatement après, soit après avoir été laissé au frigorifique à 0 degré, ou à l'étuve à 38 degrés pendant un temps variable.

Nous avons pris pour guide de la vitalité les mouvements effectués par les gamètes mâles.

1° *Sperme tout seul.* — Sans aucune addition de quoi que ce soit, les mouvements des spermatozoïdes à la température du laboratoire ne commencent à faiblir qu'à partir de la vingtième heure et disparaissent complètement à la 26^e.

Nous avons obtenu constamment des résultats analogues avec le sperme de tous les jours.

A la température du frigorifique, c'est-à-dire à zéro degré, les mouvements commencent à s'affaiblir à partir de la cinquième heure pour cesser complètement deux heures plus tard.

On connaît la vitalité des spermatozoïdes dans les voies génitales femelles, c'est-à-dire à la température de 38 degrés environ et nous croyons inutile d'y revenir.

2° *Sperme dans l'eau distillée.* — Que ce soit à la température de zéro degré, à celle du laboratoire, ou à celle de l'étuve, la mort des spermatozoïdes est pour ainsi dire instantanée.

3° *Sperme dans du sérum physiologique.* — (Solution de 9 gr. de sel marin dans un litre d'eau distillée).

Les résultats obtenus avec le sérum physiologique furent identiques à ceux obtenus avec de l'eau pure.

4° *Sperme additionné d'une solution bicarbonatée.* — Nous avons opéré à des taux variant de 5 à 40 0/00 du bicarbonate de soude dans un litre d'eau distillée.

A la température ordinaire, l'examen du liquide obtenu après le mélange de deux gouttes de sperme et d'un centimètre cube de solution, nous donna des résultats différents, suivant le taux de la solution bicarbonatée employée.

Ainsi :

A 5 0/00 (cinq pour mille) la cessation de tous mouvements est instantanée.

A 10 0/00 (dix pour mille) la mobilité est diminuée manifestement mais non complètement.

A 15 0/00 (quinze pour mille) les mouvements se continuent intégralement deux heures après le mélange et cette mobilité ne manifeste une diminution qu'à partir de la quatrième heure.

Tout mouvement disparaît complètement vers la cinquième heure.

A 20 0/00 (vingt pour mille) les résultats obtenus sont identiques à ceux qu'on constate avec la solution à 15 0/00.

A 25 0/00 (vingt-cinq pour mille) la mobilité diminue

immédiatement après le contract du sperme et de la solution.

Une heure plus tard tous les spermatozoïdes sont morts.

Comme on le voit, les résultats obtenus avec un taux de 25 0/00 (vingt-cinq pour mille) sont comparables à ceux obtenus avec la solution à 10 0/00 (dix pour mille).

A 30 0/00 (trente pour mille) on obtient des résultats comparables à ceux obtenus avec la solution à 25 0/00.

A 35 0/00 (trente-cinq pour mille) la mort des spermatozoïdes est instantanée.

A 40 0/00 (quarante pour mille) résultats identiques à ceux de la solution précédente.

Un coup d'œil sur les résultats obtenus et exposés ci-dessus montrent que :

a) Les solutions bicarbonatées présentent un optimum de taux pour la conservation des spermatozoïdes.

b) Ce taux correspond à une solution de quinze à 20 (vingt) pour mille.

c) En-dessous comme au-dessus de ce taux, la mobilité des gamètes mâles, mobilité qui nous a servi comme mesure de la vitalité, diminue progressivement.

d) Pour la solution à cinq pour mille et au-dessous, comme pour celle à 35 0/00 et au-dessus, la cessation des mouvements est instantanée.

Le résultat obtenu après la mise en étuve à une température de 38° est pour n'importe quel taux de solution la mort presque instantanée des spermatozoïdes.

Les conclusions pratiques qu'on peut tirer de ces expériences et de ces constatations sont que : dans le cas où une acidité vaginale réclame une neutralisation par des lavages alcalins, on ne doit employer ni une solution trop faible, ni une solution trop forte.

Mais, même après un lavage bicarbonaté, au taux le plus favorable, la saillie doit suivre immédiatement l'in-

jection avant que le liquide ait eu le temps de se porter à la température du corps.

On nous accordera que, dans la pratique, un tel conseil, est difficile sinon impossible à suivre.

Nous verrons par la suite, dans le cas où les solutions alcalines seront nécessaires, comment on peut obvier aux inconvénients résultant de leur utilisation.

5° *Sperme ajouté à une solution glucosée à 56 0/00 (cinquante-six pour mille) et additionnée de 5 0/00 (cinq pour mille) de bicarbonate de soude.*

Nous avons vu précédemment qu'une solution bicarbonatée à 5 0/00 tue instantanément les spermatozoïdes.

Il est difficile d'attribuer ces résultats à l'alcalinité du liquide, car nous voyons qu'une solution à quinze pour mille conserve intacte la vitalité des spermatozoïdes provenant du même sperme.

La cause de la mort du gamète mâle serait dû au fait que la solution bicarbonatée employée serait fortement hypotonique, par rapport aux liquides normaux de l'organisme, dans lesquels les spermatozoïdes évoluent.

Nous avons cherché à corriger ce défaut en prenant une solution à peu près isotonique aux liquides de l'organisme, solution obtenue par dissolution dans un litre d'eau de 50 grammes de glucose et de 5 gr. de bicarbonate.

Cette solution essayée à la température du laboratoire permet aux spermatozoïdes de conserver une mobilité satisfaisante pendant quatre heures environs, mais on voit tout de même une diminution légère de la mobilité normale, ce qui donne à supposer une légère atteinte de la vitalité de l'agent fécondant.

On obtient des résultats à peu près identiques en portant le taux du bicarbonate à dix pour mille.

Une augmentation plus importante du taux du bicarbonate dans la solution influe très manifestement sur la vita-

lité de ces agents dont la mort devient instantanée à partir d'un taux dépassant quinze pour mille.

En résumé, les résultats pratiques qu'on peut tirer de ces expériences relatives à la solution glycoso-bicarbonatée est qu'il n'y a aucun avantage à l'employer soit pour la conservation pure et simple du spermatozoïde en vue de son transport lointain, soit pour son utilisation ultérieure, soit pour la neutralisation de l'acidité utéro-vaginale.

6° *Serum de Ringer et Loch* (1).

Ce sérum recommandé par quelques auteurs comme conservateur des propriétés vitales des spermatozoïdes ne nous donna pas les résultats satisfaisants que nous attendions.

En effet, tant à l'étuve qu'à la température ordinaire du laboratoire, le contact du sperme avec ce liquide amène un affaiblissement immédiat et très marqué de la mobilité des spermatozoïdes, affaiblissement qui s'accroît progressivement.

Dans l'espace d'une heure tous les spermatozoïdes contenus dans le sperme qui fut soumis au contact de cette solution sont morts.

7° *Sperme dans un sérum physiologique cyclose* (2).

A la température de 0° la mobilité des spermatozoïdes

(1) La composition de ce sérum est la suivante :

Chlorure de sodium	8 gr.
— de calcium	0 — 20
— de potassium	0 — 20
Bicarbonate de soude	0 — 20
Glycose	1 —
Eau distillée	1.000 —

(2) La composition de ce sérum, dû à IVANOFF, est publiée par POYARKOFF, dans les comptes rendus de la Société de Biologie, page 90, Année 1914, est la suivante :

Sérum physiologique (10 gr. de CINA dans 1.000 cc. d'eau distillée), 1 p.
— glycosé (90 gr. de glycose dans 1.000g r. d'eau distillée), 9 p.

se conserve intacte jusqu'à la 44^e heure et ce n'est qu'à partir de ce moment qu'elle commence à s'affaiblir pour s'éteindre complètement vers la 46^e heure.

Si on opère à la température du laboratoire, on voit la mobilité se conserver intacte pendant les 28 heures, qui ont suivi le contact du sperme et de la solution.

Cette mobilité diminue, par la suite, et cesse complètement deux heures plus tard, c'est-à-dire vers la trentième heure.

A l'étude à 38° la mobilité est encore conservée intacte pendant trois heures environ ; elle diminue par la suite et une heure suffit à partir de ce moment pour voir la mort totale des spermatozoïdes se produire.

En résumé, on voit que le sérum physiologique et glycosé constitue un des meilleurs milieux de conservation des spermatozoïdes.

Sa faculté de conservation augmente quand la température baisse.

Ainsi la durée de cette conservation n'est que de trois heures à 38°, elle passe à 28 heures à 15° et s'élève à, 44 heures à 0°.

Les faits constatés montrent indiscutablement que cette solution pourra rendre des services dans les cas où la durée pendant laquelle on doit conserver les spermatozoïdes avec toutes leurs facultés vitales ne doit pas dépasser une quarantaine d'heures environ.

Mais elle peut rendre des services à un autre point de vue.

Nous avons vu précédemment (page 11) qu'une solution bicarbonatée quel que soit son taux tue l'agent fécondant instantanément à une température voisine de celle du corps, c'est-à-dire à 38°.

Il n'en est plus de même avec le sérum physiologique glycosé qui, à la même température, garde intacts pen-

dant trois heures environ, les facultés vitales du spermatozoïde.

Or, ce temps est suffisant pour que la fécondation puisse s'accomplir.

L'usage du bicarbonate de soude étant nécessaire pour la neutralisation utéro-vaginal, le problème revient à remplacer la solution bicarbonatée restant dans les organes génitaux femelles et mortelle pour les spermatozoïdes par une solution de sérum physiologique glycosé qui laisserait aux agents fécondants la vitalité nécessaire et pendant un temps suffisamment long (3 heures) pour qu'ils accomplissent leur fonction fécondante.

Nous reviendrons plus loin sur cette question importante.

8° *Sperme dans du bouillon de veau.*

a) *Peptonisé.*

Que ce soit au frigorifique, à la température du laboratoire ou à celle de l'étuve les résultats sont identiques : sitôt après le contact du sperme et du liquide, les mouvements des spermatozoïdes montrent une diminution considérable de leurs mouvements et meurent complètement un quart d'heure après.

b) *Glycosé.*

A la température de 0° les mouvements continuent normalement jusqu'à la dix-huitième heure environ ; à ce moment elles commencent à diminuer et deux heures après on les voit complètement cesser.

Si, par contre, on opère à la température ordinaire ou à celle de 38°, un quart d'heure suffit pour que la disparition complète de tout mouvement soit constatée.

c) *Lactosé.*

Les résultats obtenus par le bouillon de veau lactosé

sont de tous points comparables à ceux obtenus avec le même bouillon peptonisé.

En résumé, seul le bouillon glycosé pourrait offrir un intérêt au point de vue qui nous occupe et seulement si on opère à la température de 0°.

Toutefois, au point de vue pratique, cet intérêt est médiocre. En effet, grâce à sa nature et aux produits putrescibles et fermentescibles que cette préparation contient, les précautions les plus grandes sont nécessaires pour sa conservation, sans compter que sa préparation est moins simple et plus coûteuse que celle du sérum physiologique et glycosé, dont nous avons parlé précédemment.

Nous croyons donc inutile soit d'insister, soit de revenir sur cette préparation.

9° *Spermè dans du sérum sanguin.*

Nous avons opéré soit avec du sérum du chien, soit avec du sérum du cheval, l'un et l'autre fraîchement préparés.

Nous avons de même employé l'hémostyl.

Qu'il s'agisse de l'un ou de l'autre de ces sérums, qu'on opère à 0°, à la température du laboratoire ou à celle de l'étuve, les résultats sont identiques ; une agglutination se forme englobant la plupart des spermatozoïdes qui sont ainsi immobilisés.

Ceux qui restent libres, sont morts en moins d'un quart d'heure.

L'hémostyl nous a donné des résultats tout à fait comparables à ceux obtenus avec les sérums précités.

On voit qu'il est inutile d'insister sur ces produits.

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES

En résumant les observations relatées plus haut, nous croyons que seuls méritent de retenir notre attention de tous les produits mentionnés, le sérum physiologique glycosé et la solution bicarbonatée à 15 ou 20 pour mille.

Dans la pratique deux considérations sont à retenir, considérations qui répondent souvent à des nécessités réelles.

1° Le transport lointain du sperme — cas dans lequel la conservation plus ou moins longue du spermatozoïde doit être envisagée.

2° La neutralisation de l'acidité résultant des sécrétions pathologiques du vagin et de l'utérus, acidité néfaste pour les spermatozoïdes et dont la neutralisation est la condition préalable de tout essai de fécondation.

Dans le premier cas, qui nécessite une conservation du sperme en vue de son utilisation ultérieure on voit en jetant un coup d'œil sur les résultats obtenus dans les expériences précédentes que les différents produits utilisés ne conservent pas intacts les mouvements des spermatozoïdes dans la même durée de temps même si on opère dans les mêmes conditions physiques.

Il en est de même si on opère avec les mêmes produits, dont on change le taux dans la solution, ou si on change les conditions physiques (la température dans la circonstance) tout en gardant le même taux dans la solution.

Ainsi à la température de 0°, le sérum glycosé conserve intacte la vitalité des spermatozoïdes jusqu'à 44 heures,

le bouillon glycosé la conserve de même mais seulement pendant 18 heures.

A la température du laboratoire, avec le sérum glycosé on arrive à 28 heures et avec la solution bicarbonatée la plus favorable à 4 heures seulement.

A l'étuve, à 38°, seul le sérum physiologique et glycosé conserve les mouvements des spermatozoïdes 3 heures environ, tandis que tous les autres produits examinés ont donné des résultats qui ne méritent pas d'être retenus.

Les conclusions qu'on doit tirer de ces expériences et de ces constatations, en ce qui concerne la conservation des spermatozoïdes, sont que :

a) La conservation la plus longue (44 heures) serait obtenue à 0° et avec une solution de sérum physiologique glycosé.

b) A la température ordinaire le même sérum physiologique glycosé peut garder intacts les spermatozoïdes pendant 28 heures.

c) Les spermatozoïdes peuvent se conserver avec leur vitalité intacte une vingtaine d'heures environ dans le liquide spermatique tel quel et sans aucune addition d'un produit quelconque.

D'après les conditions où on opère, la possibilité de pouvoir obtenir une réfrigération convenable, le temps pendant lequel les spermatozoïdes doivent être conservés, on s'adressera à l'un ou à l'autre de ces 3 procédés.

Dans le deuxième cas, quand il s'agit de la neutralisation de l'acidité résultant des sécrétions pathologique utéro-vaginales, le bicarbonate de soude est tout indiqué.

Mais, il ne faut pas oublier qu'il existe un optimum de concentration de la solution de quinze à vingt pour mille et que si, à la température du laboratoire, cet optimum conserve la vitalité des spermatozoïdes pendant plus de 4 heures il n'en est plus de même à 38°, c'est-à-dire à la température normale du corps.

A cette température, en présence de la solution bicarbonatée, tout mouvement des spermatozoïdes cesse un quart d'heure après leur contact avec la solution considérée.

Pourvu donc qu'après le lavage neutralisant, une certaine quantité de solution bicarbonatée reste dans les voies génitales (fait certain) tout au moins chez les grandes femelles), le but poursuivi ne sera pas atteint : les spermatozoïdes seront tués avant d'arriver à leur fin.

Toutefois, la difficulté sera facilement tournée si en tenant compte des résultats relatés à la page 14 on opère de la façon suivante :

a) Lavage au bicarbonate à 15 ou 20 0/00 (pour mille).

b) Ce lavage quelques minutes après sera suivi d'un lavage au sérum physiologique glycosé, qui entraînera et remplacera la solution bicarbonatée qui a pu rester dans les organes génitaux internes.

Or, nous avons vu que le sérum physiologique glycosé à la température de 38° constitue un milieu favorable pour les spermatozoïdes qui y conservent leurs mouvements intacts pendant 3 heures environ, temps suffisant pour que la fécondation puisse avoir lieu.

ACTION DE QUELQUES ANTISEPTIQUES SUR LA VITALITE DES SPERMATOZOIDES

L'étude de cette action tout au moins pour la France, ne semble pas avoir un intérêt pratique.

Elle aurait pour but la possibilité de la stérilisation d'un sperme provenant d'un cheval à dourine, pour que cette redoutable affection ne soit pas transmise à la jument fécondée.

Il est évident, que cette stérilisation, devrait laisser intactes les facultés fécondantes des spermatozoïdes.

Cette stérilisation aurait surtout son utilité dans le cas d'un étalon réputé qui serait accidentellement infecté.

Nous avons essayé le néo-salvarsan, l'eau de Javel, le fluorure de sodium et l'acide acétique en solution.

Nous n'avons considéré que la possibilité de conservation des spermatozoïdes sans nous occuper si la stérilisation recherchée est effective ou non.

Les produits précités ont tous été étudiés à des concentrations variant de *un sur mille* à *un sur vingt mille*, dans du sérum physiologique, de façon à opérer dans un milieu isotonique.

Seul le néo-salvarsan à la proportion de 1 sur 10.000 conserva les mouvements des spermatozoïdes intacts, une dizaine de minutes, moment à partir duquel ces mouvements commencent à diminuer pour s'arrêter une vingtaine de minutes plus tard ; les autres produits essayés ont amené la mort presque instantanée des agents fécondants du sperme.

Les résultats relatés ont été obtenus à la température ordinaire du laboratoire.

Pour résumer : la question de la stérilisation possible du sperme étant mise de côté, aucun de ces produits n'a donné un résultat satisfaisant en ce qui concerne la conservation de la vitalité des spermatozoïdes.

CONCLUSIONS

Nous pouvons résumer les résultats de nos expériences en ceci :

1° Parmi les produits susceptibles d'être utilisés dans la conservation des spermatozoïdes, on ne doit pratiquement tenir compte que du sérum physiologique glycosé, qui, à la température de 0° conserve pendant 44 heures et à la température ordinaire pendant 28 heures environ, la vitalité intégrale des agents fécondants.

Il faut aussi remarquer que le liquide spermatique tel quel conserve intacte cette même vitalité pendant une vingtaine d'heures à la température ordinaire.

2° Dans les cas pathologiques où les sécrétions vaginales et utérines acides nécessitent une neutralisation préalable, cette neutralisation sera opérée avec une solution de bicarbonate de soude au taux de 15 à 20 0/00 de préférence.

Ce lavage sera suivi quelques minutes après d'un lavage de sérum physiologique et glycosé de façon à éliminer la solution bicarbonatée mortelle pour les spermatozoïdes à la température normale du corps dans un laps de temps très court.

La saillie sera opérée le plus tôt possible après ce dernier lavage, la solution physiologique et glycosée ne conservant intégralement les propriétés vitales des spermatozoïdes que pendant trois heures environ, à la température du corps, mais cette durée est d'autant plus longue que la température de la solution bicarbonatée est plus basse.

Vu : *Le Doyen,*

BALTHAZARD.

Vu : *Le Président,*

CHAMPY.

Vu et Permis d'Imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

S. CHARLETY.

BIBLIOGRAPHIE

- IVANOFF. — Action de l'alcool sur les spermatozoïdes des mammifères. C. R. S. B. 1913, p. 430.
- Expériences sur la fécondation des mammifères avec le sperme mélangé d'alcool. C. R. S. B. 1913, p. 482.
- FALTZ, FEIN ET IVANOFF. — A propos du problème de la télégonie. Compte rendu. Société de Biologie, 1913, p. 1029.
- IVANOFF. — Expériences sur la fécondation artificielle des oiseaux. C. R. Société Biologie, 1913, p. 373.
- Application de la fécondation artificielle dans l'élevage des renard noirs et des renards argentés. The Veterinary Journal, mai 1923.
- POYARKOFF. — Le rôle de la pression osmotique et ses phénomènes d'adaptation élémentaire dans la biologie des spermatozoïdes. C. R. Société de Biologie 1917.
- IVANOFF. — Fécondation artificielle dans l'élevage des renards argentés. Revue générale 1923. T. XXXII, p. 656.
- Expériences sur la fécondation artificielle des oiseaux. C. R. Société Biologique, t. LXXV.
- La fonction des vésicules séminales et des glandes prostatiques dans l'acte de la fécondation. Journal de Physiologie et Pathologie générale, 1900.
- Rapport entre l'ovulation et le ru chez les brebis. C. R. Société Biologie 1914, t. LXXVII.
- VOITELLIER (Ch.). — Une amélioration de l'élevage par la méthode Ivanoff. *Revue de Zootechnie* 1923 p. 386.
- SLOWTZOFF. — Sur la composition biochimique de liquide spermatique. C. R. Société Biologie 1916, LXXIX.
- POYARKOFF. — Conductibilité du sperme du cheval et du chien. C. R. Société de Biologie LXXVII, 1914.
- IVANOFF ET ANDREEFF. — Recherches sur les ferments du liquide spermatique du chien. C. R. Société de Biologie LXXIX, p. 85, 1916.
- IVANOFF. — Fécondation artificielle, méthode zootechnique. Bulletin de la Société Centrale de Médecine Vétérinaire, page 363, 1924.
- CUROT. — Fécondation et stérilité. Thèse, Paris 1925.

IMPRIMERIE DU MONTPARNASSE

ET DE PERSAN-BEAUMONT

47, RUE DE LA GAITÉ

PARIS

